

ОСМОТИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ И АДАПТАЦИЯ
К ГИПОТОНИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ
У *ESCHINORHYNCHUS GADI*
(*ASCANTHOCERPHALA*, *ESCHINORHYNCHIDAE*)

В. В. Хлебович, О. Ю. Михайлова

Беломорская биологическая станция
Зоологического института АН СССР, Ленинград

Показано, что осмотическое давление содержимого кишечника трески — местообитания исследованных скребней — соответствует осмотическому давлению морской воды соленостью 10‰. Уровень сорбции нейтрального красного интактными червями был практически неизменным после их содержания в течение суток в диапазоне концентраций морской воды от 8—10 до 30‰. Этот диапазон считается экологическим оптимумом. Скребни, перенесенные из солености 10 в соленость 4‰, продемонстрировали компенсаторное восстановление нормального уровня сорбции красителя к 5—6-му дню опыта. Способность скребней, обладающих крайней степенью постоянства клеточного состава (эутелией), к физиологической адаптации свидетельствует о необязательности участия в акклимации митотических процессов.

Среда первого порядка эндопаразитических червей в отношении ее тоничности и состава солей должна существенно меняться в зависимости от стадий жизненного цикла или физиологического состояния хозяина. Однако, как это следует из недавно проведенного обзора (Хлебович, 1974а), эколого-физиологических исследований отношений эндопаразитов к осмотическому (соленостному) фактору среды весьма немного. В частности, в литературе отсутствуют данные о способности эндопаразитических червей к физиологической адаптации (акклимации) в ответ на изменение дозы соленостного фактора. В значительной степени это может быть объяснено методическими ограничениями — до последнего времени воздействие осмотического давления на эндопаразита оценивалось почти исключительно по изменениям его веса (Bair a. Peters, 1971).

Осмотические реакции скребней демонстрируются немногими примерами. Геттье (Gettier, 1942) исследовал устойчивость извлеченных из кишечника черепах скребней *Neoechinorhynchus emidis*, помещенных в серии сосудов с различной концентрацией хлористого натрия или раствора Рингера (3—8, 10, 15, 20, 30, 35 и 40‰). Черви быстро погибали при солености ниже 5‰ и выше 20‰, оптимум приходился примерно на 7‰. Ван Клиф и Росс (Van Cleave a. Ross, 1944), изучая изменения формы тела *N. emidis* в средах разной тоничности, отмечают, что скребни имеют нормальный облик, соответствующий их виду в кишечнике хозяина, в средах соленостью 8—8.5‰. Наконец, Хармс (Harms, 1965) указывает, что при культивировании *in vitro* скребни находят наилучшие условия при осмотическом давлении и соленостном составе, наиболее близком физиологическим растворам. Эколого-физиологические исследования соленостных и осмотических отношений скребней, помимо частного интереса, важны в том отношении, что они проводятся на организмах с рядом специфических особенностей, таких, как наличие чрезвычайно крупных ядер или характерная для этой группы полная или почти полная эутелия — постоянство клеточного состава (Van Cleave, 1914, 1932, 1951; Baer, 1961;

Nicholas, 1967; Robinson, 1973). Тем самым скребни могут оказаться уникальными модельными объектами при исследовании явлений, когда желательным исключить влияние процессов, связанных с размножением клеток, или иметь возможность длительно наблюдать за реакцией гигантских ядер.

Цель настоящей работы — определить границы осмотической (соленостной) толерантности и способность адаптироваться к пониженному осмотическому давлению скребня *Echinorhynchus gadi*. Физиологическое состояние интактных червей, в отличие от исследований других авторов, мы попытались определять по изменению сорбции витального красителя телом червя по методу, предложенному Насоновым (Насонов, 1934; Браун и Иванов, 1933; Граменицкий, 1963). Этот метод, по мнению Гинецинского (1963), «является непревзойденным по своей простоте и чувствительности».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа проводилась на Беломорской биологической станции Зоологического института АН СССР в октябре 1973 г. Черви извлекались из кишечников трески, выловленной в устьевой части губы Чупа при солености воды около 26‰. Отбирались одноразмерные черви (сухой вес 2.4 ± 0.8 мг), которые после быстрой отмывки водой соленостью 10‰ шли в опыт. Выбор этой солености в качестве контрольной определялся следующими соображениями. Известно, что морские рыбы пьют воду, излишки солей которой всасываются в кишечнике и далее удаляются через жабры, таким образом достигается характерная для морских костистых рыб гипотония (Гинецинский, 1963). Отсюда очевидно, что вода, попавшая в кишечник, становится гипотоничной по сравнению с морской водой (Пучков, 1954). Показано также, что как поступление воды в кишечник через рот, так и всасывание солей в кишечнике идут с различной интенсивностью в зависимости от ряда внешних факторов (Корзинкин, 1962). Таким образом, содержание солей в кишечнике морских рыб подвержено значительным колебаниям. Соответствующие показатели не могут быть выше таковых среды обитания и ниже показателей солености и осмотического давления внутренней среды рыб — плазмы их крови. Если применить это положение к конкретной ситуации с беломорскими костистыми рыбами в районе наших работ, то, очевидно, осмотическое давление их энтеральной среды будет испытывать колебания, примерно сравнимые с колебаниями осмотического давления морской воды, имеющей соленость в пределах от 28—26 до 10—14‰. Нижний предел этого диапазона и был принят за контрольный.

Экспериментальных животных содержали в чашках Петри в тонком слое морской воды соответствующей концентрации. Опыты проводились в изотермической комнате при температуре $4-6^{\circ}$, т. е. близкой к температуре морской воды на глубинах, с которых отлавливалась треска в это время.

После экспериментального воздействия состояние червей оценивалось по уровню сорбции витального красного. После часовой экспозиции в 0.05%-м растворе красителя, приготовленного на морской воде, соответствующей опыту солености, по три червя переносилось на сутки в сосуды, содержащие 15 мл 96%-го этанола, подкисленного серной кислотой. Количество экстрагированной краски (соответственно сорбированной) определялось по изменению оптической плотности раствора на колориметре ФЭК-М с использованием зеленых светофильтров и 15-миллилитровой кюветы и выражалось в проценте от уровня в контрольной солености 10‰. Результаты обрабатывались статистически. Каждая точка — результат пяти измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Осмотическая толерантность определялась по уровню сорбции красителя после выдерживания только что выбранных из пойманной трески червей в течение одних суток в морской воде разной солености в диапазоне

от 2 до 50‰. Результаты этого эксперимента приведены на рис. 1. Описывающая соответствующую зависимость кривая имеет два ясно выраженных плато. Первое из них приходится на диапазон соленостей от 8—10 до 30‰. Стабильность уровня сорбции красителя в этом диапазоне мы склонны объяснять тем, что он соответствует экологическому оптимуму червей. Постепенное уменьшение сорбции красителя по мере понижения солености за пределы 8—10‰ можно поставить в связь с набуханием клеток и тканей червя в условиях гипотонии. Результатом гидратации покровных элементов должно быть соответственное уменьшение просвета тех пор и каналов в покровах, которые свойственны этим питающимся всей поверхностью тела, лишенным кишечника и рта организмам (Rothman a. Rosario, 1961; Барабашова, 1965; Nicholas a. Mercer, 1965; Wright

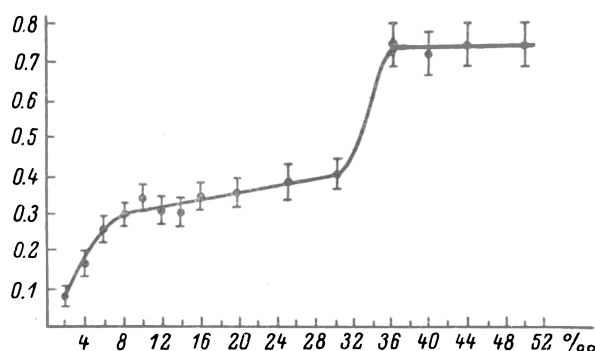


Рис. 1. Уровень сорбции нейтрального красного скребнями после суточной экспозиции в морской воде разной солености.

По оси абсцисс — соленость в промилле; по оси ординат — показатель оптической плотности спиртовых вытяжек из окрашенных червей (объяснение см. в тексте).

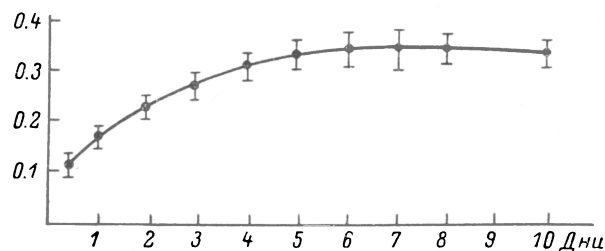


Рис. 2. Изменение во времени уровня сорбции нейтрального красного скребнями, перенесенными из 10 в 4‰.

По оси абсцисс — время экспозиции в днях; по оси ординат — то же, что на рис. 1. Остальные обозначения такие же, как и на рис. 1.

а. Lumpsdon, 1969). Тем самым при гипотонии, очевидно, снижается проникновение красителя через поры, и это уменьшение оказывается пропорциональным степени вредного воздействия.

Если уменьшение сорбции при гипотонии мы объясняем сужением пор и каналов в покровах, то резкое увеличение сорбции красителя при солености выше 30‰ следует, очевидно, традиционно объяснять (Браун и Иванов, 1933; Насонов, 1934; Граменицкий, 1963) следствием непосредственного повреждения клеток альтерирующим фактором. Отсюда очевидно заключение о том, что при солености выше 30‰ черви находятся за пределами экологического оптимума.

Во второй серии опытов определялась способность скребней к соленостной акклимации. Червей после промывки водой соленостью 10‰ переносили в среду соленостью 4‰, которая, как следует из предыдущего

опыта, находится для только что пойманных организмов за пределами оптимума. Затем регулярно в течение десяти дней часть червей отбиралась для определения уровня сорбции ими нейтрального красного.

Как видно на рис. 2, в самом начале эксперимента черви воспринимают краситель в небольшой степени, что согласуется с результатами первого опыта, показавшего снижение уровня сорбции при кратковременном (суточном) воздействии гипотонии. Затем последовательно изо дня в день относительное количество сорбированного красителя возрастает вплоть до 5—6-х суток опыта, после чего в дальнейшем остается неизменным. При этом оно достигает уровня, который, по данным первого опыта, отвечает таковому у червей из зоны соленостного оптимума. Кривая на рис. 2 свидетельствует о том, что у скребней, перенесенных в гипотоничную среду, развивается адаптивный компенсаторный процесс, который мы вправе рассматривать как процесс соленостной акклимации, как физиологическую адаптацию к опреснению. В пользу этого свидетельствует также то обстоятельство, что возвращение к нормальному уровню реагирования, в данном случае уровню сорбции красителя, достигается на 5—6-й день опыта, т. е. за период времени, близкий к тому, которым, по-видимому, характеризуется завершение акклимации у ряда свободноживущих водных беспозвоночных (Хлебович и Бергер, 1975).

Результаты эксперимента, доказавшего способность скребней к соленостной акклимации, имеют, по нашему мнению, существенное значение для понимания механизмов специфической физиологической адаптации. Недавно было обращено внимание на то обстоятельство, что агенты, оказывающие специфическое — стимулирующее или тормозящее — действие на способность ряда беломорских свободноживущих беспозвоночных акклимироваться к опреснению среды (актиномицин Д, оливомицин, митомицин С и циклофосфамид), являются признанными в медицинской практике иммунодепрессорами и как таковыми — цитостатиками, тормозящими клеточные митозы (Хлебович, 1974б). Отсюда можно было бы предположить, что физиологическая адаптация к опреснению каким-то образом оказывается связанной с митотическими процессами, приводящими к образованию новых клонов клеток. Доказательство способности скребней, обладающих чрезвычайной эutelией — постоянством клеточного состава — к акклимации указывает на необязательность участия митозов в этом процессе.

Л и т е р а т у р а

- Б а р а б а ш о в а В. Н. 1965. Тонкое строение покровных тканей двух видов скребней *Filicollis anatis* (Schrank, 1788) и *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Pallas, 1781). Матер. научн. конфер. Всесоюз. общ. гельминтологов, 3 : 25—28.
- Б р а у н А. А. и И в а н о в М. Ф. 1933. Витальная окраска поперечно-полосатой мышечной ткани в различных экспериментальных условиях. Арх. анат. гистол. эмбриол., 12 (1) : 3—26.
- Г и н е ц и н с к и й А. Г. 1963. Физиологические механизмы водно—солевого равновесия. Изд. АН СССР, М.—Л. : 1—427.
- Г р а м е н и ц к и й Е. М. 1963. Прижизненная окраска клеток и тканей. Медгиз, Л. : 1—151.
- К о р з и н к и н Г. С. 1962. Использование радиоактивных изотопов в рыбном хозяйстве. Пищепромиздат, М. : 1—70.
- Н а с о н о в Д. Н. 1934. Витальное окрашивание как метод изучения действия различных «раздражителей» на клетку. Арх. биол. наук, т. 34, (1—3) : 163—173.
- П у ч к о в Н. В. 1954. Физиология рыб. Пищепромиздат, М. : 1—371.
- Х л е б о в и ч В. В. 1974а. Критическая соленость биологических процессов. Изд. «Наука», Л. : 1—235.
- Х л е б о в и ч В. В. 1974б. Действие иммунодепрессоров на соленостную акклимацию беломорского моллюска *Hydrobia ulvae* (Pennant) и турбеллярии *Convoluta convoluta* (Abilgaard). Журн. общ. биол., 35, (2) : 299—303.
- Х л е б о в и ч В. В. и В. Я. Б е р г е р. 1975. Некоторые аспекты исследования фенотипических адаптаций. Журн. общ. биол., т. 36, (1) : 11—25.
- В а е r J. C. 1961. Embranchement des Acanthocephales. In: P. Grassé (ed.). *Traité de Zoologie*, 4 : 732—782.
- В a i r Th. D. and P e t e r s M. 1971. Osmoregulation in the trematode *Haematoloechus medioplexus* (Looss). *Compar. Biochem. Physiol.*, 39A : 165—171.
- G e t t i e r D. A. 1942. Studies on the saline requirements of *Neoechinorhynchus emidis*. *Proc. helminth. soc. Wash.*, 9 : 75—78.

- Harms C. E. 1965. In vitro cultivation of an acanthocephalan *Octospinifer macilentis*. Exptl. parasitolog., 17 : 41—45.
- Nicholas W. L. 1967. The biology of the Acanthocephala. In: Advances in Parasitology, vol. 5, Acad. Press., London—N. Y. : 205—246.
- Nicholas W. L. and Mercer E. N. 1965. The ultrastructure of the tegument of *Moniliformis dubius* (Acanthocephala). Quart. Journ. Micr. Sci., 106 : 137—146.
- Robinson E. S. 1973. Growth and differentiation of giant nuclei in *Moniliformis* (Acanthocephala). Journ. Parasitolog., 59 : 679—684.
- Rothman A. H. and Rosario B. 1961. The structure of the body surface of *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, as seen with the electron microscope. Journ. Parasitolog., 47 : 25.
- Van Cleave H. J. 1914. Studies in cell constancy in the genus *Eorhynchus*. Journ. morpholog., 25 : 253—299.
- Van Cleave H. J. 1932. Eutely or cell constancy in its relation to body size. Quart. rev. biolog., 7 : 59—67.
- Van Cleave H. J. 1951. Giant nuclei in the subcuticula in the thorny-headed worm of the hog (*Macracanthorhynchus hirudinaceus*). Trans. Amer. Micr. Soc., 70 : 237—241.
- Van Cleave H. J. and Ross E. L. 1944. Physiological responses of *Neoechinorhynchus emidis* (Acanthocephala) to various solution. Journ. Parasitolog., 30 : 369—372.
- Wright R. D. and Lumsden R. D. 1969. Ultrastructure of the tegumentary pore—canal system of the acanthocephalan *Moniliformis dubius*. Journ Parasitolog., 55 : 993—1003.

OSMOTIC TOLERANCE AND ADAPTATION
TO A HYPOTONIC MEDIUM IN *ECHINORHYNCHUS GADI*
(ACANTHOCEPHALA, ECHINORHYNCHIDAE)

V. V. Khlebovich, O. Yu. Mikhailova

SUMMARY

Minimum of the osmotic pressure in the intestine of the cod corresponds to the osmotic pressure of sea water of 10‰. The sorbtion level of neutral red by intact *E. gadi* remained practically unchanged after their maintenance in sea water of 8—10 to 30‰ during 24 hours (ecological optimum). Specimens of *E. gadi* transferred from 10 to 4‰ displayed compensatory recovery of the normal sorbtion level of the dye by the 5th—6th day of the experiment. The ability of *Acanthocephala* possessing extreme eutelia to a physiological adaptation is indicative of its not obligatory participation of mitotic processes in the acclimation.
